



Title	サロマ湖養殖ホタテガイの養殖環境と閉殻筋アルギニンリン酸量の季節変化
Author(s)	武田, 忠明; Takeda, Tadaaki; 櫻井, 泉 他
Citation	北海道大学水産科学研究彙報, 66(1), 1-7
Issue Date	2016-03-18
DOI	https://doi.org/10.14943/bull.fish.66.1.1
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/61049
Type	departmental bulletin paper
File Information	bull.fish.66.1.1.pdf



サロマ湖養殖ホタテガイの養殖環境と閉殻筋アルギニンリン酸量の季節変化

武田 忠明¹⁾・櫻井 泉²⁾・前川 公彦³⁾・埜澤 尚範⁴⁾

(2015年11月10日受付, 2015年11月26日受理)

Seasonal Variations of Arginine Phosphate Concentration in Adductor Muscle of the Japanese Scallop *Mizuhopecten yessoensis* Associated with Aquaculture Environment in Lake Saroma, Hokkaido

Tadaaki TAKEDA¹⁾, Izumi SAKURAI²⁾, Kimihiko MAEKAWA³⁾ and Hisanori NOZAWA⁴⁾

Abstract

In Japan, the Japanese scallop aquaculture industry has started in Lake Saroma, Hokkaido. Recently, the scallops in the lake are produced from 4,000 tons to 9,000 tons in year by hanging culture. However, mass die-offs of cultured scallops have been frequently observed in the lake. For instance, the mortality rate in 2007 and 2008 reached about 10% or more of the amount of aquaculture. Although these die-offs might be due to abrupt changes in the aquaculture environment, the relationship between environmental stress and die-off in scallops has yet to be clarified. Our previous results suggest that arginine phosphate concentration (ArgP) in the adductor muscle can be a good predictor of scallop die-off. This study aimed to evaluate scallop die-off on the aquaculture site by using ArgP. We investigated the relationship between the environmental changes such as water temperature, salinity, dissolved oxygen concentration, and water flow in the lake and ArgP in the adductor muscle. As a result, annual average of ArgP showed 14.6 ± 2.6 mol/g in the year characterized with less environmental change and low mortality rate. Therefore, the value of ArgP would become one of the indicator to evaluate the changes in the aquaculture environment.

Key word : Scallop, Arginine phosphate, Aquaculture environment, Lake Saroma

緒 言

サロマ湖は、ホタテガイ養殖産業の発祥の地である。現在の生産技術は、長年に及ぶ多くの漁業関係者の弛まぬ努力により改善・改良され確立されてきたものである。サロマ湖養殖ホタテガイの生産量は、昭和49年から平成25年にかけて約4千から9千トンの範囲で推移してきたが、この間、大量へい死などの重大な危機に何度か直面し、その都度適切な対策が施された。すなわち、種苗育成時の籠当りの収容個体数制限、耳吊り垂下法の採用、生産許容量の設定、海洋観測の強化など多くの試行錯誤が重ねられ生産量の安定化が図られてきた。しかし、ここ数年の養殖環境の急減な変動、例えば温暖化に伴う水温の上昇、猛烈な低気圧の発達による波浪の発生など、数十

年前には想定されていなかった養殖環境の変化が発生している。2007年および2008年にホタテガイのへい死率が10%を超え、上述した養殖環境の変動が大きな要因と考えられているが、へい死に至るホタテガイの活力低下を把握するための客観的な指標がないため、養殖環境変動とへい死の関係を詳細に解明するには至っていない。著者らは、ホタテガイがへい死に至る活力の低下は、閉殻筋に含まれるエネルギー成分の消長と密接な関係があると考え、養殖環境で想定される各種ストレスをホタテガイに負荷し、そのときの活力と閉殻筋のATP量およびアルギニンリン酸量を測定して、これらエネルギー成分の消長と活力低下との関係について検討してきた。その結果、活力低下およびATP量の減少に先行して、アルギニンリン酸量が減少することが明らかとなり、外観や接触

¹⁾ 地方独立行政法人北海道立総合研究機構中央水産試験場
(Central Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization)

²⁾ 東海大学生物学部海洋生物科学科
(Department of Marine Biology and Sciences, Tokai University)

³⁾ サロマ湖養殖漁業協同組合
(Lake Saroma Fisheries and Aquaculture Co-operation Organization)

⁴⁾ 北海道大学大学院水産科学研究院水産食品科学分野
(Laboratory of Marine Food Science and Technology, Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University)

反応だけでは判断がつかない活力低下を区別・予測できる可能性を示した(武田ら, 2014)。さらに, ホタテガイに高水温, 低塩分および無酸素の各ストレスを長時間負荷して飼育し, 閉殻筋のアルギニンリン酸量が概ね 5 $\mu\text{mol/g}$ 以下に減少すると, 飼育環境をストレス負荷前の条件に戻してもホタテガイの活力は回復せず, 約 50% の貝がへい死することを明らかにした(武田ら, 2015)。本調査では, このアルギニンリン酸を活力低下の予測指標として養殖現場で活用するため, 2012 年から 2104 年においてサロマ湖を調査フィールドとして, 水温, 溶存酸素濃度 (DO), 塩分濃度, 流速などの養殖環境データとその環境下で生息するホタテガイのアルギニンリン酸量等の周年調査を行った。

材料および方法

調査期間と場所

2012 年 4 月から 11 月, 2013 年および 2014 年の 5 月から 10 月に, サロマ湖中央部を定点 (Fig. 1) として, 概ね月 1 回調査を行った。なお, 11 月中旬から翌年 4 月中旬は湖内結氷により調査は行っていない。

海洋観測と試料採取

調査定点では, まず高水温, 低塩分, 波浪などの環境変化の影響を受けやすい水深 4 m において海洋観測を行った後に, 同点水深 4 m 付近の養殖貝を 5 個体採取して, 船上にて殻高および活力の測定後, 開殻して閉殻筋の一部を切断し, 氷冷して実験室に持ち帰った。それら試料について, 氷冷後 3 h 以内にアルギニンリン酸および ATP を抽出した。

海洋観測項目

水深 4 m の水温, 塩分, DO, クロロフィル量, 流速を測定した。水温, 塩分, DO, クロロフィル量は, 直読式水質計 (JFE アドバンテック社製; AAQ1182) により計測した。流速は電磁流向流速計 (JFE アドバンテック社製; Infinity-EM) をホタテガイの垂下連に設置し, 10 分毎

の流速を自動計測した。計測したデータは, 各年の調査月毎に 0-5 cm/sec, 5-10 cm/sec, 10-15 cm/sec, 15-25 cm/sec に分類し, それらの各発生回数を計数した。

ホタテガイの活力測定

外套膜を針で刺激し, 殻の開閉動作の敏捷性と繰り返し回数により 3 段階に評価した。各活力は, 活力高を 2, 活力低を 1, 活力無を 0 として, 活力を 5 個体の平均値 \pm 標準偏差で表記した。

アルギニンリン酸および ATP の抽出

閉殻筋約 2 g を精秤し, それに冷 6% 過塩素酸 20 mL を加えてホモジナイズした後, 遠心分離 (12,000 \times g, 10 min) を行い, 分離した上清を氷水で冷却しながら 10 N KOH で中和し, 生成した沈殿を遠心分離により除去後, 50 mL に定容し分析試料とした(武田ら, 2010)。

アルギニンリン酸および ATP の定量

アルギニンリン酸は, 既報(武田ら, 2014)と同様の方法(松本・山中, 1991)に準拠して, 上記にて調製した分析試料を HPLC により定量した。アルギニンリン酸標準品は Sigma-Aldrich 製を用いた。ATP は, 既報(武田ら, 2014)と同様の方法(Matsumoto and Yamanaka, 1990)に準拠して, 上記にて調製した分析試料を HPLC により定量した。なお, 各定量値は 5 個体の平均値 \pm 標準偏差で表記した。

グリコーゲン量の測定

ホタテガイ閉殻筋 2 g を精秤し, それに 30% KOH 4 mL を加えて, 沸騰水中にて分解液化した。放冷後, エタノール 20 mL を加えて混和し, 3,000 \times g で 15 min 遠心分離した。上清を捨て, 沈殿物に蒸留水 10 mL を加えて溶解後, 飽和 KCl とエタノール 15 mL を加えて混和し, 3,000 \times g で 15 min 遠心分離した。この操作を 2 回繰り返し, 沈殿物を蒸留水に溶解し 100 mL に定容した。得られた溶液を適宜希釈し, アンスロン・硫酸法(福井, 1969)にてグリコーゲン量を定量した。

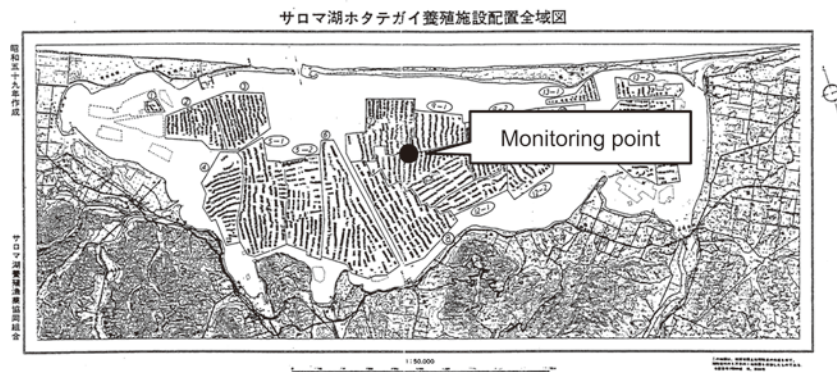


Fig. 1. Locating of monitoring point in Lake Saroma.

統計学的検定

統計学的検定にはエクセル統計 2012(社会情報サービス)を用いた。特に Fig. 7 の各測定項目について、各年ごとの比較(年変化)は Tukey-Kramer 検定で、各年の月ごとの比較(季節変化)は Kruskal-Wallis 検定と Steel-Dwas 法による多重比較検定を行った。

結 果

水温、塩分、溶存酸素濃度の季節変化

2012 年から 2014 年の定点における水温、塩分、DO の季節変化を Fig. 2 に示した。なお、本調査の測定値を過去の観測値と比較するため、サロマ湖内に設置された海洋観測ブイにて 2003 年から 2011 年の 10 年間に観測された各項目の測定値の平均値(以下、平年値とする)を併せて図示した。水温は、2012 年 4 月から 8 月にかけて平年値とほぼ同様の値で推移したが、9 月には 20℃ を超えて平年値よりもやや高い水温が続いた。2013 年は湖内解氷が遅れた影響により、5 月上旬から 6 月中旬にかけて 4.6℃-13.4℃ と平年値の 7.8℃-13.8℃ よりも低い値で推移した。その後 7 月から 8 月にかけては逆に高い水温で推移した。2014 年も前年と同様に解氷の遅れにより、5 月下旬から 6 月上旬にかけて 7.0℃-11.2℃ と、平年値の 9.2℃-12.4℃ よりも低い値で推移した。6 月中旬以降は平年値と同様の値

で推移した。

塩分は、2012 年には平年値とほぼ同様の推移を示したが、2013 年および 2014 年は解氷の遅れが影響し、5 月から 6 月にかけて、2013 年が 29.9%-32.1%、2014 年が 29.8%-31.5% と平年値 31.5%-32.3% よりも低値で推移した。DO は、2012 年から 2014 年で、春先の低水温時に高く、夏にかけて低下する平年値とほぼ同様の変化をした。また、各年ともに 7 ppm 以上の値で推移し、貧酸素の状況は認められなかった。2014 年の 5 月および 6 月で平年値よりも高い値で推移したが、これは解氷の遅れによる低水温が影響したものと考えられる。

流速の季節変化

2012 から 2014 年の流速の季節変化を Fig. 3 に示した。各年の月別流速発生頻度では 5 cm/sec 未満が計測数の 80% 以上を占め、次いで 5-10 cm/sec 未満の発生頻度が高かった。櫻井ら(2004)によれば、流速 15 cm/sec 以上でホタテガイの成長に影響があることが報告されているが、流速 15 cm/sec 以上が観測された回数は 2012 年-2014 年の全計測回数の 0.04% に当たる計 32 回、その発生時期では 4 月-5 月の春季に 23 回および夏季 8 月の 7 回であった。この流速 15 cm/sec 以上の観測値とそれらが発生した同時刻に定点付近で観測された最大風速値の関係を Fig. 4 に示した。その結果、流速 15 cm/sec 以上が観測されたときには、10 m/sec 以上の最大風速値が観測されていることが分かった。

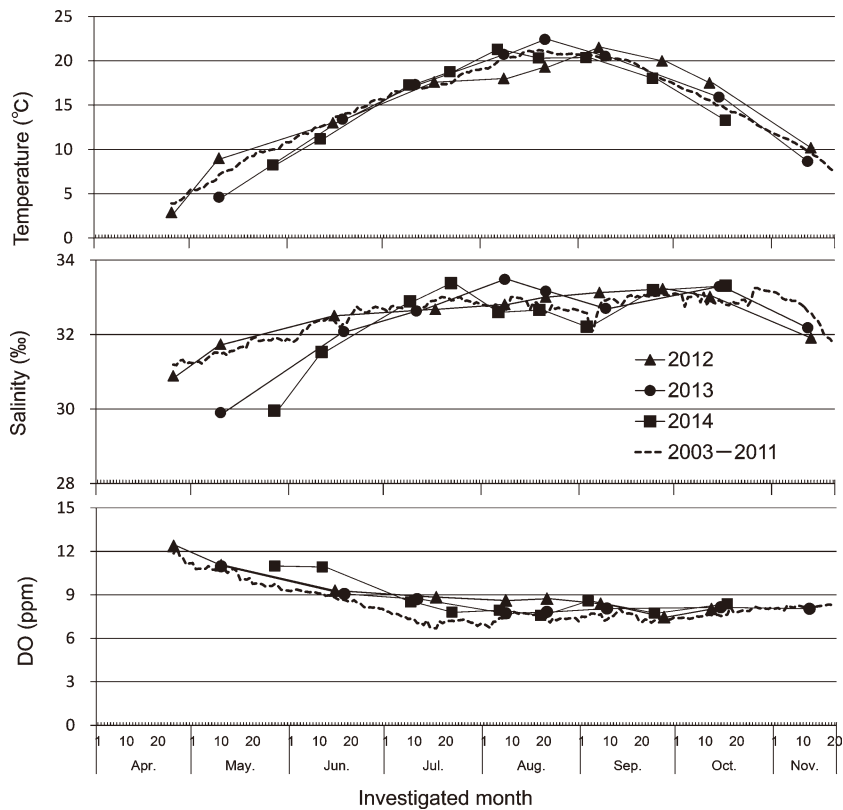


Fig. 2. Seasonal variations of water temperature, salinity and dissolved oxygen in Lake Saroma.

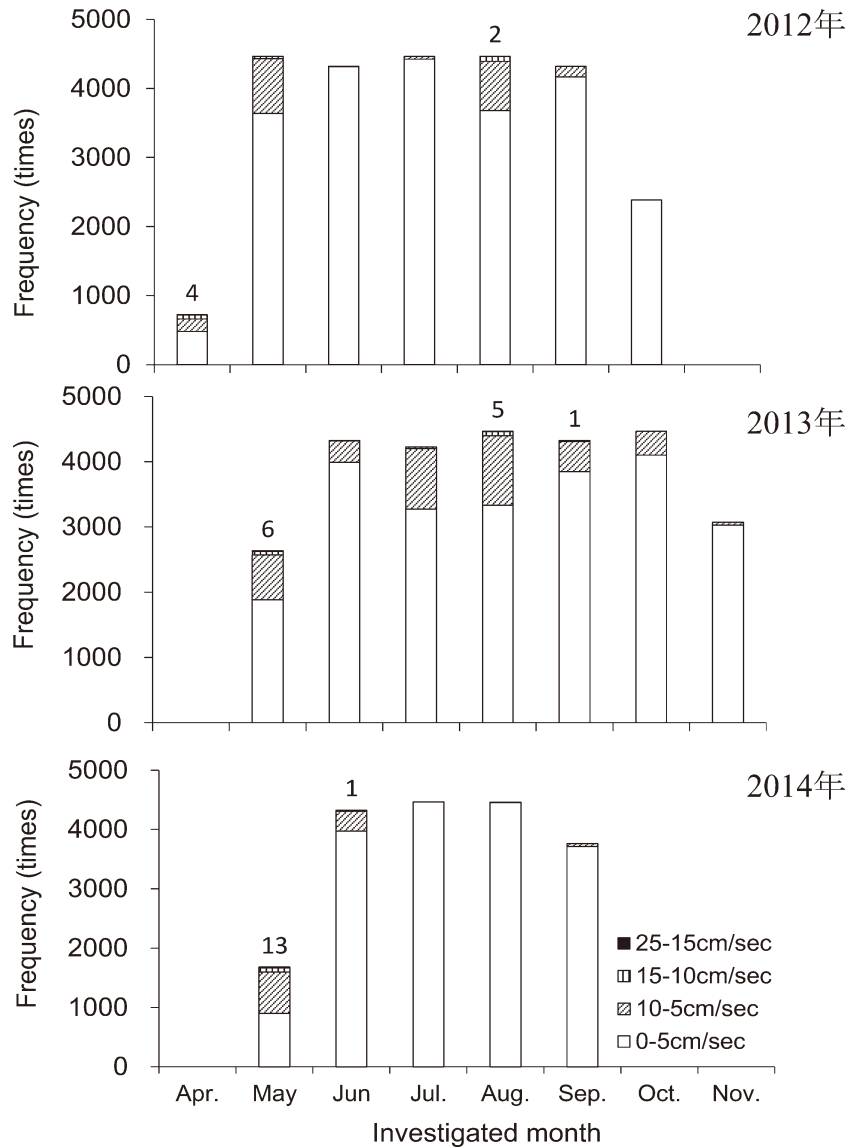


Fig. 3. Seasonal variations of frequency at water flow velocity from 2012 to 2014 in Lake Saroma. The numerical value on the stick in figure shows the generation frequency of 15-25 cm/sec at flow velocity. The total of the generation frequency is different depending on the measurement days.

へい死率の経年変化

調査定点付近における 2003 年から 2014 年の出荷貝のへい死率を Fig. 5 に示した。2003 年から 2006 年は 4.2%-6.0% で推移したが、2007 年に 11.1%、2008 年に 10.4% と 2 年続けて大きな被害が出た。その後、2009 年から 2011 年には 3.0%-5.0%、本調査期間の 2012 年から 2014 年は 4.3%-4.9% で推移した。

ホタテガイのグリコーゲン量と殻高成長

2012 年から 2014 年の定点におけるクロロフィル量、グリコーゲン量、殻高を Fig. 6 に示した。クロロフィル量は、各年ともに 4 月から 5 月にかけて春季ブルーミングに伴った高値を示した後、6 月以降は低い値で推移した。閉殻筋

のグリコーゲン量の季節変化は、各年ともにクロロフィル量が高値を示した後の 5 月から 6 月にかけて増加し、その後 10 月まで 4%-6% で推移した。貝の殻高は、各年ともに 5 月から 11 月にかけて 90 mm-110 mm 程度に増加した。ただし、2012 年の 9 月から 10 月、2013 年および 2014 年の 5 月から 6 月には、殻高の成長に遅れが認められた。これは 2012 年の 9 月に水温 20°C を超える日が続いたこと、2013 年および 2014 年には 5 月から 6 月にかけての低水温、低塩分および 15 cm/sec 以上の流速が繰り返して発生したことが影響したものと推察された。

活力およびエネルギー成分量の季節変化

2012 年から 2014 年の定点における活力スコア、ATP 量およびアルギニンリン酸量を Fig. 7 に示した。活力スコア

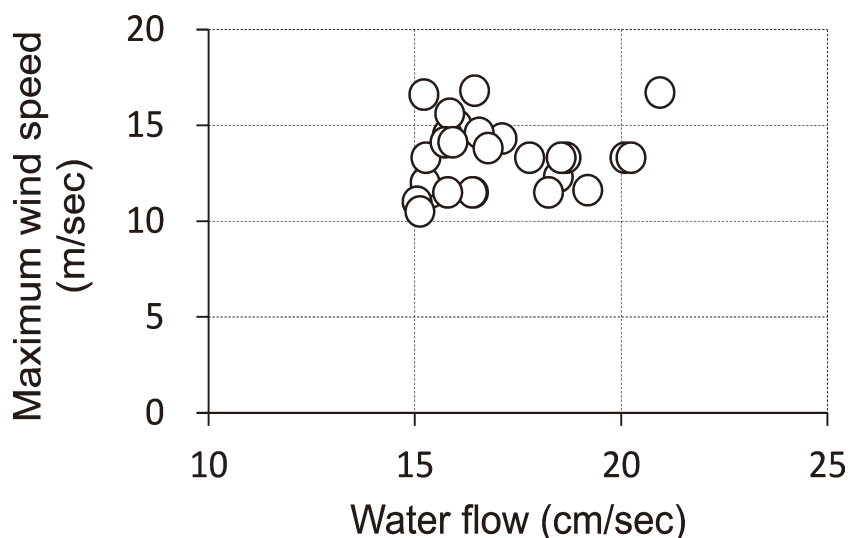


Fig. 4. Relationship between the water flow velocity and the maximum wind speed. The maximum wind speed value was measured with the oceanographic observation buoy when the flow velocity of 15 or more was observed.

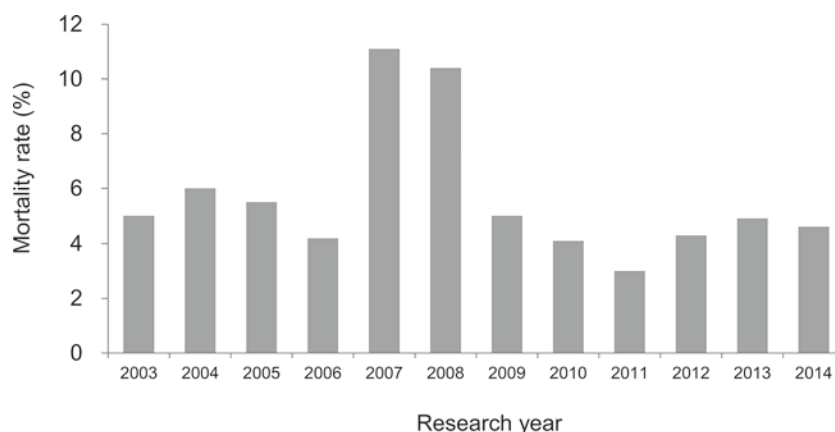


Fig. 5. Mortality rate of scallop of monitoring point in Lake Saroma.

は、2012年から2014年の3か年で 1.8 ± 0.4 ($n=134$) であった。調査年別の平均値には有意差が認められなかった。各年の調査月別では2012年は5月から8月においてスコア2であったが、4月および9月から11月にスコアの減少がみられた。2013年は6月から9月においてスコア2であったが、5月および10月から11月にスコアの減少がみられた。同様に、2014年は6月から8月においてスコア2であったが、5月および9月から11月にスコアの減少がみられた。以上、活力の季節変化では、春季および秋季に低値、夏季に高値を示す傾向であった。

次に、ATP量は2012年から2014年で 8.8 ± 1.3 $\mu\text{mol/g}$ ($n=134$) で、調査年別では2012年が 8.1 ± 0.7 $\mu\text{mol/g}$ ($n=50$) に対して、2013年が 8.8 ± 1.1 $\mu\text{mol/g}$ ($n=40$) および2014年が 9.4 ± 1.6 $\mu\text{mol/g}$ ($n=44$) を示し、それぞれで有意差 (2013年; $p < 0.05$, 2014年; $p < 0.01$) が認められた。一方、2012年から2014年のすべての調査月別の平均値 ($n=27$) には有意差が認められなかった。

アルギニンリン酸量は2012年から2014年の3か年で 14.6 ± 2.6 $\mu\text{mol/g}$ ($n=134$) であった。調査年別では2012年が 15.5 ± 2.0 $\mu\text{mol/g}$ ($n=50$)、2013年が 13.7 ± 2.6 $\mu\text{mol/g}$ ($n=40$) および2014年が 14.5 ± 3.1 $\mu\text{mol/g}$ ($n=44$) を示して、2012年と2013年にそれぞれ有意差 ($p < 0.01$) が認められた。一方、2012年から2014年のすべての調査月別の平均値 ($n=27$) には有意差が認められなかった。以上の結果、調査した期間は養殖環境の変動が少なく、ATPおよびArgPの有意な変化は認められなかったが、逆に好環境下においては活力と比例して安定的なATPおよびArgP含量が長期間にわたって維持されていることが確認できた。

考 察

著者らは、これまでに室内での屋内管理水槽での飼育試験により、ホタテガイのへい死に至る活力低下を予測するには閉殻筋のアルギニンリン酸量が良い指標であり

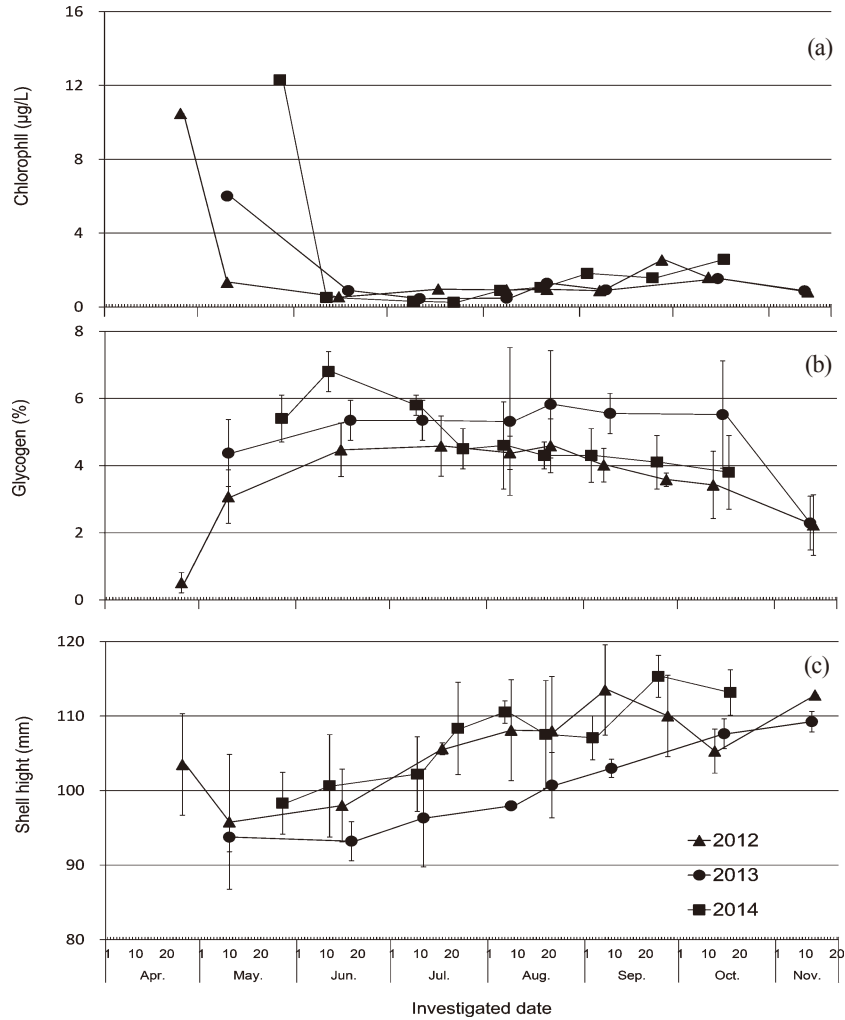


Fig. 6. Seasonal variations in chlorophyll (a), glycogen content in scallop adductor muscle (b) and shell height (c) from the years 2012 to 2014 in Lake Saroma. Each values of (a), (b), (c) are means \pm SD ($n=5$).

(武田ら, 2014), それが $5 \mu\text{mol/g}$ 以下に減少すると約 50% の貝がへい死に至ることを示した(武田ら, 2015)。本研究では, 実際の養殖現場で, このアルギニンリン酸量をホタテガイの活力低下予測指標として活用することを目標に, サロマ湖をフィールドとして, 水温, DO, 塩分濃度, 流速の海洋環境データとその環境下で生息するホタテガイの閉殻筋アルギニンリン酸量等を周年調査した。その結果, 2012 年から 2014 年における水温, 塩分濃度, DO および流速は, 平年値に比べ一部に差が認められたが, 比較的静穏な養殖環境下であったと推察され, 調査期間中のへい死率は 4.3%-4.9% と 10% 未満で推移した。本研究は当初, 著しい環境変化に対応したホタテガイ成分, 特に ATP や ArgP などのエネルギー成分の変動を追跡することを企図していたが, 調査期間中はいたって平穏な養殖環境下でありこの目的は果たせなかった。しかしながら長期にわたって平穏環境が継続した状況でのサロマ湖産ホタテガイのエネルギー成分を初めて詳細に追跡することができ, 今後の, へい死予測の基準値を得る目的は

達成することができた。

ホタテガイのエネルギー代謝の基礎となる閉殻筋グリコーゲン量は, 各年ともにクロロフィル量増加後の 5 月から 6 月にかけて増加し, その後 10 月まで 4%-6% で推移した。この季節変化は, オホーツク外海産ホタテガイのグリコーゲン量の一事例, すなわち 3 月の 1% 未満から 8 月には 4% 前後まで増加し, その後 11 月にかけて 1% 未満に減少するパターンと異なっていた(木村, 2003)。ATP 量は 2012 年から 2014 年で $8.8 \pm 1.3 \mu\text{mol/g}$ ($n=134$) で, 顕著な季節変化は認められなかった。これは, オホーツク外海産のホタテガイの ATP の一事例, すなわち 3 月の 4% 程度から 8 月には 7% 以上に増加し, その後 11 月にかけて緩やかに減少するパターンと異なっていた。サロマ湖産とオホーツク外海産のホタテガイのグリコーゲンおよび ATP の含有量と季節変化の違いは, それぞれの餌料環境, 養殖環境および養殖方法, すなわちサロマ湖が垂下養殖に対して外海では地蒔養殖であることなどが影響していると考えられる。

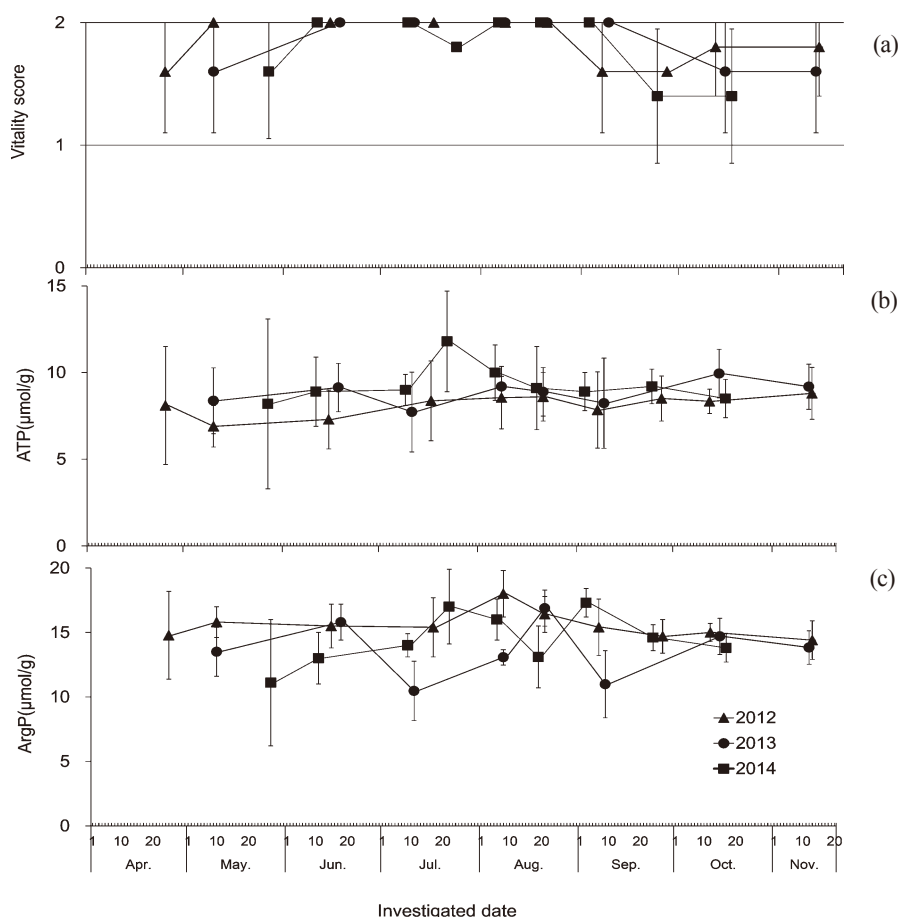


Fig. 7. Seasonal variations in vitality score (a), ATP (b) and arginine phosphate (c) in scallop adductor muscle from the years 2012 to 2014 in Lake Saroma. Each values of (a), (b), (c) are means \pm SD ($n = 5$).

本調査期間中、アルギニンリン酸量は $14.6 \pm 2.6 \mu\text{mol/g}$ ($n = 134$) で推移し、ホタテガイの活力が維持されている間は、アルギニンリン酸量も一定の水準を保持することが明らかになり、これがサロマ湖の静穏な養殖環境下における調査基準値となると判断された。今後、この調査基準値をもとにサロマ湖でのホタテガイ閉殻筋アルギニンリン酸量のモニタリングを継続し、環境が悪化した時の貝の活力低下および養殖環境データとの詳細な因果関係を解明する予定である。なお、今回得られたデータの中には、複合的な環境ストレスによるものと推察されるアルギニンリン酸量の低下が認められた。例えば、2014年5月末のアルギニンリン酸量は $11.1 \pm 4.9 \mu\text{mol/g}$ ($n = 5$) であったが、5個体中2個体の測定値が $6.5 \mu\text{mol/g}$ および $6.7 \mu\text{mol/g}$ と限界値である $5 \mu\text{mol/g}$ に近い数値を示した。このときの海洋観測データをみると、湖内解氷の遅れによる低水温と低塩分に加え、最大風速 $11.5\text{--}14.3 \text{ m/sec}$ の強風による 15 cm/sec 以上の流速が2hで12回観測されている。今後は、こうした複合的な環境変化に対するホタテガイの活力低下の予測手法も検討する必要があると考える。

文 献

- 福井作蔵 (1969) 生物化学実験法 1 還元糖の定量法. 学会出版センター, 東京.
- 木村 稔 (2003) ホタテガイ貝柱の品質保持に関する研究. 北水試研報, **65** 別冊, 1-47.
- Matsumoto, M. and Yamanaka, H (1990) Post-mortem biochemical changes in the muscle of kuruma prawn during storage and evaluation of the freshness. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 1145-1149.
- 松本美鈴・山中英明 (1991) クルマエビの死後硬直に関する研究. 日本水産学会誌, **57**, 2121-2126.
- 櫻井 泉・下野 学・今野繁基・水野勝彦・成田伝彦 (2004) 養殖ホタテガイの成長に及ぼす流れの影響. 日水誌, **70**, 1-7.
- 武田忠明・秋野雅樹・今村琢磨・埜澤尚範 (2010) 低温蓄養がホタテガイ生鮮貝柱の硬化抑制に与える影響. 日水誌, **76**, 946-952.
- 武田忠明・櫻井 泉・前川公彦・埜澤尚範 (2014) 環境ストレス負荷によるホタテガイ *Mizuhopecten yessoensis* の活力低下と閉殻筋 ATP およびアルギニンリン酸含量の関係. 日水誌, **80**, 753-760.
- 武田忠明・櫻井 泉・前川公彦・埜澤尚範 (2015) ホタテガイ *Mizuhopecten yessoensis* の活力回復に必要な閉殻筋アルギニンリン酸含量の閾値推定. 日水誌, **81**, 694-700.